

РЕЦЕНЗІЯ

кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника

відділу біофізики сенсорної сигналізації

Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

Дужого Дмитра Євгенійовича

на дисертаційну роботу

Короїда Костянтина Володимировича

«Властивості ноцицептивного аферентного входу в першу і десятю

пластини спинного мозку щурів»

виконану на здобуття ступеня доктора філософії

з галузі знань 09 Біологія

за спеціальністю 091 Біологія та біохімія

Актуальність теми дисертаційної роботи

Відчуття болю, добре знайоме кожній людині з дитинства, є хоч і найнеприємніше, але з іншого боку, найнеобхідніше для збереження неушкодженості тканин і навіть інколи життя. Воно виникає, коли поріг стимуляції зовнішнього подразника (температурного, механічного чи хімічного) досягає величини, що може пошкодити або починає ушкоджувати тканини організму, викликаючи загибель окремих клітин, і на рівні рефлексів змушує уникати небезпеки ушкодження більшої частини тканин чи органів, яке може загрожувати життю. Якщо ж значного ушкодження клітин і тканин уникнути не вдалося короткотривалий біль може перерости в довготривалий хронічний біль, який унеможливорює нормальне життя людини. Тому вивчення молекулярних механізмів, що підтримують хронічний біль є актуальним для пошуку способів його довготривалого пригнічення. Нейропатичний хронічний біль, прикладами якого є спонтанний колючий біль, тупий ниючий біль, або біль, що виникає при зазвичай слабкій механічній стимуляції ділянок тіла, як от ступнів ніг при звичайній ходьбі, розвивається при механічному або біохімічному ушкодженню нервів (при травмах, хронічних хворобах). Ушкодження первинних сенсорних нейронів, багато з яких не є ноцицептивними, призводить до змін в активності вторинних передавальних нейронів в першій та десятій пластині спинного мозку та в нейронах, що пов'язані з ними, що сильно впливає на розвинення і формування відчуття нейропатичного хронічного болю, але молекулярні механізми цього процесу

досі не з'ясовані. Тому тема дисертаційної роботи Короїда Костянтина Володимировича «Властивості ноцицептивного аферентного входу в першу і десятю пластини спинного мозку щурів» є безперечно актуальною.

Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача

Дисертаційна робота Короїда К.В. виконана на належному науковому рівні та має теоретичну і практичну значимість. Дисертаційна робота написана літературною українською мовою, побудована за традиційною схемою і містить всі необхідні розділи, а саме - анотацію, ключові слова, список наукових праць по темі дослідження, зміст, перелік умовних скорочень, вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, результати власних досліджень, обговорення результатів дослідження, висновки, список використаних джерел із 78 найменувань. Анотація дисертації відображає її основний зміст і розкриває основні результати роботи, ключові слова повністю відповідають її змісту.

Апробація результатів дисертації була достатньої мірою представлена на зарубіжних та вітчизняних конференціях із міжнародною участю, а також у фахових науково-метричних журналах. За **структурою і обсягом** дисертаційна робота повністю відповідає вимогам МОН України та має відповідну логічну структурну послідовність.

Огляд літератури містить 7 підрозділів, що розкривають суть болю та ноцицепції, хронічного нейропатичного болю та його механізми, особливості передачі ноцицептивної інформації в спинному мозку, дають загальні відомості про організацію спинного рогу спинного мозку та особливості первинних аферентних проекцій у структурах дорсального рогу спинного мозку пластини X та підтипів нейронів у цій пластині, проводять порівняльний аналіз методів дослідження функціональної активності нейронів.

У відповідності до огляду літератури у Вступі дисертації були визначені мета та завдання дослідження. Завдання відповідають меті та

розкриваються в розділі Результати досліджень. Об'єкт та предмет дослідження відповідають меті і завданням.

Методи дослідження детально описані у відповідному розділі дисертації і є адекватними для вирішення поставлених завдань, особливо якщо брати до уваги детальне порівняння сучасних методів, що автор зробив в Огляді літератури.

Розділ «Результати досліджень» автора є найбільшим розділом дисертації і містить результати електрофізіологічних досліджень на зразках тканин із мінімальним порушенням структури нейронних мереж, властиві *in vivo*, а також поведінкових тестів на тваринах. Отримані результати були підкріплені адекватними статистичними методами. Результати детально описані у чотирьох підрозділах та проілюстровані достатньою кількістю рисунків з відповідними підписами. Серед результатів роботи особливу цінність, безумовно, мають електрофізіологічна характеристика підтипів нейронів в першій та десятій пластинах спинного рогу спинного мозку та зміни в розподілі по підтипах при розвитку нейропатичного хронічного болю.

Новизна отриманих результатів не викликає сумнівів. На моделі нейропатичного болю у щурів автором виявлено зниження порогу активації в існуючих підтипах спинномозкових-парабрахіальних ноцицептивних нейронів в пластині I спинного мозку, а також появу в цій ділянці нових підтипів нейронів зі спонтанною або такою, що активується низько-пороговим стимулом, довготривалою генерацією потенціалів дії. Зниження порогу активації потенціалів дії у значної частини нейронів може пояснити виявлення в поведінкових тестах алодінії і механічної гіпералгезії у щурів з розвитком нейропатичного запалення, тоді як поява нового підтипу нейронів зі спонтанною довготривалою генерацією потенціалів дії може пояснити виявлені ознаки спонтанного болю у нейропатичних щурів. Іншим значним здобутком автора є розкриття ролі ванілоїдних рецепторів TRPV1, активація яких призводить до розвитку нейрогенного запалення і болю, в

синаптичних механізмах підсилення больового сигналу, що надходить до нейронів в пластині X від вісцеральних та соматичних афферентів. Виявилось, що активація рецепторів TRPV1 призводить не тільки до підвищення викиду синаптичних везикул з терміналей в глутаматних синапсах, які передають сигнал болю на проекційні нейрони, але й до підвищення чутливості постсинаптичних рецепторів до глутамату, що проявляється в підвищенні амплітуди мініатюрних збуджувальних постсинаптичних струмів. Автор з'ясував, що таке збільшення пов'язане з повільним вхідним струмом, який можливо спричинений підвищеною експресією рецепторів TRPV1 на частині проекційних нейронів, де спостерігається цей ефект. Отримані результати дозволяють включити рецептори TRPV1, а також канали AMPA і NMDA, в список потенційних мішеней для подолання хронічного нейрогенного болю, а також розглянути з цією ж метою інші механізми підсилення глутаматергічної синаптичної передачі, пов'язані з активацією лігандами рецепторів TRPV1 ендоканабіноїдної системи.

Особистий внесок здобувача у дисертаційну роботу «Властивості ноцицептивного аферентного входу в першу і десятю пластини спинного мозку щурів» не викликає сумнівів і є достатньо вагомим та суттєвим у межах даної наукової роботи.

У заключному розділі «**Обговорення результатів досліджень**» симптоми нейропатичного хронічного болю, гіпералгезія, алодинія і спонтанний біль, обговорюються з точки зору отриманих результатів. Ці симптоми логічно пов'язуються з зниженням порогу активації існуючих ноцицептивних підтипів нейронів в моделі нейрогенного запалення у щурів і появою нових підтипів — низькопорогових нейронів з довготривалою активністю і нейронів зі спонтанною довготривалою генерацією потенціалів дії. Обговорюються можливі молекулярні механізми таких змін та молекулярні мішені для протидії наслідкам цих змін. Також в цьому розділі, на основі отриманих результатів, обговорюються можливі причини і механізми хронізації і посилення нейропатичного хронічного болю при

активації одного з основних «рецепторів запалення» -TRPV1. В результаті аналізу цих причин і механізмів пропонуються нові молекулярні мішені для боротьби з хронізацією та посиленням нейропатичного хронічного болю.

Висновки показують відповідність отриманих результатів поставленим завданням згідно з метою дослідження і є доказом виконання цих завдань.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана в рамках відомчих тем НДР відділу Біофізики сенсорної сигналізації Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України та міжнародних наукових проєктів: «Дослідження низхідної регуляції активності сенсорних нейронів різних типів поверхневих ламін дорсального рогу та ламіни X, в нормі та при розвитку хронічних больових синдромів» (2024–2028; № держ. реєстрації — 0124U001557); «Функціональні характеристики нейронів спинного мозку та їх зміни при різноманітних патологіях та травмах» (2019–2023; № держ. реєстрації — 0118U007346); «Роль TRP каналів у вісцеральній ноцицепції та порушенні скоротливої активності гладеньких м'язів, викликаній дією загальних анестетиків» (2022–2023; № держ. реєстрації — 0124U001557); «The Role of the Complement System in Spinal Mechanisms of Chronic Pain» (2019–2024 National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health, USA).

Структура, обсяг та повнота викладення матеріалів дисертаційної роботи

Дисертаційна робота є рукописом українською мовою обсягом 122 сторінки. Дисертація складається з анотації, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і основних методів дослідження, результатів досліджень, обговорення результатів дослідження, висновків, списку із 78 використаних джерел. Дисертація ілюстрована 28 рисунками. Дотримання засад академічної доброчесності у виконаному дисертаційному дослідженні додатково засвідчується результатами перевірки на академічний плагіат з використанням програми Unicheck.

Зауваження та запитання до дисертаційної роботи

За умови загалом високої оцінки роботи Короїда К. В., все ж слід звернути увагу на такі зауваження та запитання:

1. В якому типі нейронів досліджувалась зміна частоти mEPSCs при прикладанні капсаїцину? Односпайкові чи відтерміновані? Якщо у всіх підряд, то у яких зміни важливіші при хронічному болю?

2. Як корелює ділення нейронів на дві групи по реакції на капсаїцин з діленням на односпайкові і відтерміновані?

3. Близько третини клітин у моделі пошкодження нерва проявили спонтанну генерацію потенціалів дії. Чи можна вважати це електрофізіологічним маркером спонтанного болю?

4. На сторінці 97 і 98 прикладання AP-5 зменшувало частоту sEPSCs, а на сторінці 98 додавання CNQX зменшувало частоту вже mEPSCs. То що насправді досліджувалось, sEPSCs чи mEPSCs?

Разом із тим зазначені зауваження не знижують якості роботи, не мають принципового характеру, не стосуються концепції та висновків дисертаційного дослідження і не впливають на його загальну позитивну оцінку.

Загальний висновок офіційного опонента

За актуальністю, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, ступенем обґрунтованості та достовірністю положень і висновків дисертація повністю відповідає вимогам Постанови Кабінету міністрів України №44 від 12 січня 2022 року "Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії" та відповідає напряму наукових досліджень освітньо-наукової програми Біологія та біохімія (Біофізика; Фізіологія людини і тварин; Патологічна фізіологія) третього освітньонаукового рівня вищої освіти Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України зі спеціальності 091

Біологія та біохімія, а її автор Короїд Костянтин Володимирович заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія».

Рецензент

кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник
відділу Біофізики сенсорної сигналізації
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця
НАН України
Дмитро ДУЖИЙ

